

Box No 681 / 19.12.2019г

До Председателя на Научно жури  
Определено със заповед № 722/25.10.2019 г.  
на директора на Института по невробиология при БАН  
гр. София

### РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ по професионално направление „Биологични ефекти на природни и синтетични вещества“, научна специалност „Фармакология“ (шифър 03.01.24)

**Автор на дисертационния труд:** Алмира Павлова Георгиева, докторант на самостоятелна подготовка към Института по невробиология при БАН – гр. София, с научни консултанти доц. д-р Албена Александрова и доц. д-р Милка Милева.

**Тема на дисертационния труд:** “Сравнителен фитохимичен анализ и биологични активности на ароматични продукти от българските маслодайни Rosa alba L. Rosa damascena Mill.”

**Рецензент:** чл. кор. Христо Миладинов Найденски, д-р, Институт по микробиология „Стефан Ангелов“ – БАН

**Декларирам,** че не съществуват условия за конфликт на интереси между мен и кандидата Алмира Павлова Георгиева по смисъла на параграф 1, точки 2а, 3, 4 и 5 от ДР на ЗРАСРБ.

#### 1. Кратко представяне на кандидата

Алмира Павлова Георгиева е завършила Химически факултет при СУ „Св. Климент Охридски“ със специалност „Неорганична и аналитична химия“ през 1991 г. От април 2001 г. е назначена на работа като специалист-химик в лаборатория „Свободно-радикални процеси“ към Института по невробиология при БАН, а от 2014 г. като асистент към същата лаборатория. От 01 юли 2016 г. е зачислена като докторант на самостоятелна подготовка в същото звено с посочените по-горе научни консултанти.

## **2. Актуалност на проблема**

Нарастващият интерес към фитотерапията на редица социално-значими заболявания обуславя интензивните проучвания върху биологичната активност на лечебните растения и продуктите получени от тях. От друга страна, причиняваните големи икономически загуби, причинявани от високите нива на антимикробна резистентност и важното медицинско и биотехнологично значение на новите биологично активни съединения налагат необходимостта от тяхното постоянно търсене, разработване и характеризирание с цел успешното им въвеждане във фармацевтичната индустрия и медицината. Отглеждането и преработката на етерично-маслени култури в България се благоприятства от климатичните и почвени условия и има дълбоки корени и традиции. Доказаната перспективност от приложението на различни препарати от маслени растения, в т.ч. и розата, е определено предизвикателство за автора да изследва широк спектър на биологични активности – противогъбични, антибактериални, антиоксидантни, противотуморни, противовъзпалителни и др. Поради малкия брой съобщения в литературата, вкл. и у нас относно свойствата на ароматичните продукти от българските *Rosa alba* L. и *Rosa Damascena* Mill., представените изследвания са много актуални, значими и с подчертана оригиналност.

## **3. Степен на познаване състоянието на проблема и творческа интерпретация на литературния обзор.**

В разделът *Литературен обзор* са представени обобщени данни за фитохимичния състав на масло от *Rosa alba* L. и *Rosa Damascena* Mill., както и от съпътстващи технологични продукти при производството на етерични масла – розова вода, конкрет и абсолю от посочените два вида рози, отглеждани в различни географски региони в чужбина и у нас. Основните биологични свойства на етеричните масла от ароматни и лечебни растения са разгледани в контекста на тяхното потенциално приложение за борба с редица инфекциозни заболявания при хора и животни, както и редица патологични състояния като диабет, рак, невродегенеративни и сърдечно-съдови заболявания, артрит и др.

В допълнение са разгледани и редица фармакологични ефекти на маслото и други ароматични продукти на розата, като антиоксидантен, хепатопротективен, антиконвулсивен, антиноцицептивен и др. Подробно е анализирана антимикробната активност на етеричните масла от посочените видове рози срещу голям брой Грам-положителни и Грам-отрицателни бактерии, и тяхната противогъбична активност, като се представят данни и за чистите им компоненти – цитронелол, гераниол и нерол.

Компетентно са анализирани и представени данните за антиоксидантната активност с акцент върху свободните радикали и участието им в процеси протичащи в организма, хранителни и козметични продукти, и преки окисление на липидите. В светлината на съвременните научни схващания са представени данни за антиоксидантната клетъчна защитна система – неензимните и ензимни ендогенни антиоксиданти (каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза) и техния механизъм на действие. В обособен подраздел са разгледани актуални въпроси свързани с изследвания на етерични масла от *Rosa alba* L. и *Rosa Damascena* Mill. за антирадикалови и антиоксидантни свойства. Независимо, че научните публикации за биологичната активност на розовия хидрозол са твърде оскъдни, данните доказват, че розовата вода може да ограничи патогенността на микробите, като намали неутрофилната стимулация отговорна за възпалителните реакции. Обект на интерес са и представените данни за структурата, физикохимичните свойства и биологична активност (антимикробна, антитуморна, антиоксидантна) и на основните съединения участващи в състава на етеричното масло от двата вида рози – гераниол, цитронелол, линалол, евгенол, полифеноли и др. При проучване ролята на свободните радикали в патогенезата на вирусните инфекции са използвани различни модели – грипни, херпесни и други патогенни за човека вируси от сем. *Picornaviridae*, *Flaviviridae*, *Orthomyxoviridae* и др. В обособено в края на литературния обзор основание за изследването са изтъкнати най-важните мотиви за разработването на настоящия дисертационен труд.

**4. Цел, задачи, хипотези и методи на изследване. Съответствие на избраната методика на изследване с поставената цел и задачи на дисертационния труд.**

Върху основата на направения преглед на достъпната литература по темата е изведена целта на настоящата работа, която е формулирана точно и ясно. Представени са и общо 5 на брой изследователски задачи, свързани с определяне състава на ароматичните продукти от *Rosa alba* L. и *Rosa Damascena* Mill., тяхната антимикробна активност (антибактериална, антифунгална и антивирусна), и антиоксидантни свойства в химични системи, генериращи свободни радикали и в отделни *in vitro* системи.

Частта *Материали и методи* е представена в обем от 20 страници, и представлява съвкупност от добре описани технологични подходи за получаване на етерично масло, хидрозол, конкрет и абсолю от цветове на роза, аналитични газхроматографски, физикохимични, биохимични и химични методи, както и широка гама от микробиологични методи подбрани в съответствие с поставените цели и задачи. Представен е и математичен модел за изчисляване на инхибиращия ефект на изследваните розови масла и нистатин поотделно и в комбинации върху *Aspergillus flavus*. Прилагането на посочените методи се съчетава с доброто описание на различните опитни постановки, сформирани при отделните анализи и прецизната статистическа обработка на резултатите, което демонстрира добрата практическа подготовка на кандидата.

**5. Овагледеност и представяне на получените резултати.**

В разделът *Резултати* са описани и анализирани количествените показатели получени чрез газхроматографски-масспектрален анализ на основните класове химични съединения, участващи в състава на етеричните масла, двата аерозола и абсолю от изследваните рози. Представен е и сравнителен анализ на съдържанието на феноли в ароматичните продукти.

Съществен дял в дисертационния труд заемат проведените антибактериални, антифунгални, антивирусни и антиоксидантни изследвания с етеричните масла, хидрозол и абсолю от двата вида рози. Използван е панел от 7 вида Грам-

положителни и Грам-отрицателни бактерии, които са причинители на редица инфекции, в т.ч. и на вътреболнични инфекции с устойчивост към клинично използвани антибиотици. Микроорганизмите използвани в теста за антифунгална активност на продуктите от рози са патогенни за растения, животни и човек, както и с промишлено значение за производството на фармакологично активни продукти. Антивирусния скрининг е проведен срещу вируси от пет таксономични групи, като предварително е определена цитотоксичността на изследваните вещества към клетъчните линии в които се реплицират вирусите. Антиоксидантните свойства на масло и розова вода от *Rosa alba* L. и *Rosa Damascena* Mill. са определяни в система от DPPH радикали, антирадикалов ефект срещу генерирания в реакционната смес супероксиден анионов радикал, желязо ( $Fe^{2+}$ ) свързващия капацитет и в *in vitro* модел на оксидативен стрес с оценка на антиоксидантния статус на MDBK клетки, инфектирани с експериментална HSV-1 инфекция. Получените резултати и научни факти са подходящо онагледени с 1 схема, 4 пана от снимки, 14 таблици и 32 фигури, които намирам за достатъчно информативни.

#### 6. Обсъждане на резултатите и използвана литература.

В логична последователност и връзка със цялостното изложение разделът *Дискусия* разглежда в сравнителен план отделни класове химически съединения (окислени монотерпени, бензоидни съединения, алифатни въглеродороди, и др.) доказани в маслото от *Rosa alba* L. спрямо наличните в *Rosa Damascena* Mill., за качеството на която има национален и международен стандарт – БДС ISO 9842:2006). Проведеният сравнителен анализ и върху съдържанието и съотношението между отделни фитоконпоненти (гераниол, цитронелол, и нерол) в двата вида рози са отговорни не само за аромата, но и за биологичните активности на маслото и получения хидрозол. По отношение различията в качествения състав на абсолю от двата вида рози, авторката дискутира значението на използвания разтворител, различията в технологичния процес и някои епигенетични фактори. По-високата антимикробна активност на българските розови масла срещу Грам-положителните бактериални видове

(*Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*) се дължи на съвкупност от фактори – строеж, състав и заряд на клетъчната стена, степен на проницаемост, промяна в топологията на мембранни липиди и протеини и др. Ефектът на фенолните съединения е в зависимост от концентрацията, като при ниски концентрации те деактивират ензимите участващи в енергийния баланс. Данните за антифунгална активност на хидрозолиите срещу *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. fumigates*, сочат слаб фунгистатичен ефект, като единствено при *Penicilium chrysogenum* от *Rosa Damascena* Mill. се наблюдава по-значителен ефект. Като възможни механизми на резистентност към определени антифунгални агенти се посочват промени в сигналната трансдукция на микробните клетки, развитие на биофилми, дисфункция на гъбичните митохондрии, инхибиране на ефлукс помпите и др. Антифунгалния ефект се повишава значително след комбинация на тестваните масла с нистатин. Резултатите показват ясна тенденция на инхибиране растежа на *A. flavus*, и *A. niger* при най-високата концентрация на маслата – 50 µg/ml. Създаденият математически модел позволява да се направи извода, че комбинацията на масло от *Rosa Damascena* Mill. и нистатин проявява достоверен синергичен ефект при инхибирането на радиалния растеж на *A. flavus*, а комбинацията от нистатин и масло от *Rosa alba* L. проявява слаб адитивен ефект. Сериозно предизвикателство при търсенето на лекарства, които селективно да атакуват гъбичките в присъствието на нормални организмови клетки е сериозно предизвикателство предвид на факта, че и двата вида клетки са еукариотни.

Подробно се анализират и оригиналните резултати от антивирусната активност на българските розови масла. Данните налагат извода, че маслата не инхибират вътреклетъчния репликативен цикъл на херпес вируса, а предварителното третиране на MDBK клетките с етеричните масла показва добра протекция срещу HSV-1 вируса. Добър антиоксидантен ефект на розовите хидрозоли се доказва и при оксидативен стрес при *in vivo* условия. Тези изследвания обаче, следва да бъдат продължени и на животински модели.

#### **7. Приноси на дисертационния труд.**

Настоящият дисертационен труд представя резултати в посока сравнителен фитохимичен анализ на ароматични продукти от *Rosa alba* L. и *Rosa Damascena* Mill., както и редица свързани с тях биологични активности. Направени са оригинални и потвърдителни приноси, които приемам.

#### **8. Оценка за степента на личното участие на дисертанта в приносите.**

Личното участие на дисертанта в приносите определям като значително предвид на неговото активно участие в експерименталната работа, както и водещото ѝ участие в една публикация и участие в представени други три публикации.

#### **9. Критични бележки и въпроси.**

Към представения ми за рецензиране дисертационен труд имам някои стилистични забележки, най-важната от които е изписването на оцветяването по Грам по четири различни варианта. Освен това препоръчвам МИК да не се представя в проценти, а в тегловна единица спрямо определен обем.

#### **10. Публикувани статии и цитирания.**

Във връзка с дисертационния труд са публикувани общо 4 работи, 2 от които в Доклади на БАН и две в международни списания, като всичките са с импакт фактор. Добро впечатление правят представените данни за цитирания на посочените статии.

Представеният автореферат отразява обективно структурата и съдържанието на дисертационния труд.

**В заключение** намирам, че представеният ми за рецензиране дисертационен труд на Алмира Павлова Георгиева на тема “Сравнителен фитохимичен анализ и биологични активности на ароматични продукти от българските маслодайни *Rosa alba* L. и *Rosa damascena* Mill.” е напълно експериментално завършен с оригинални научни и научно-приложни приноси за медикобиологията и фармакологията с фокус върху българските маслодайни рози. Въз основа на научените и приложени от докторантката различни методи на изследване и

направените обобщения и изводи считам, че представеният дисертационен труд отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника на Института по невробиология при БАН за неговото приложение.

Позволявам си да предложа на уважаемото Научно жури също да гласува положително и да присъди на Алмира Павлова Георгиева образователната и научна степен „*Доктор*“ по научната специалност „Фармакология“.

София, 19.12.2019 г.

Изготвил:   
(чл.-кор. Христо Найдeнски, двмн)